L'APPAREIL DE GOLGI

Absent dans les bactéries, L'AG est présent dans l'ensemble des cellules eucaryotes. Il a été découvert et décrit par Camilo Golgi (prix Nobel en 1906). La technique d'imprégnation osmique qu'il avait mise au point lui a permis d'observer dans les cellules de Purkinje du cervelet un réseau péri nucléaire osmiophile qu'il appela réseau réticulaire interne.

Au MO L'AG apparait comme : un ensemble d'organites dispersés très souvent juxta nucléaire en forme d'écailles. Chaque écaille ou dictyosome de 1à 3 microns de diamètre présente une face chromophobe concave et une face chromophile convexe.

Au MET chaque dictyosome apparait constitué d'un empilement de 5 à 10 saccules aplatis, les vésicules périphériques sont petites (50nm) et parfois recouvertes de clathrine. Dans la face concave on observe de grandes vésicules (1000 nm) qui évoluent en vésicules de sécrétion.

L'AG est polarisé avec une face convexe proximale ou face cis et une face concave distale ou face trans. L'épaisseur de la membrane tri stratifiée qui délimite saccules et vésicules golgiennes reflète cette polarité, elle est de 5 à 7,5nm sur la face concave

ISOLEMENT DE LA FRACTION GOLGIENNE.

Par UCD les dictyosome se scindent en microsomes lisses indiscernables de ceux formés par le REL ou par l'enveloppe nucléaire. E n réalisant l'homogénat dans des conditions très douces. Les dictyosomes peuvent être isolés par UCD sous forme de saccules.

ANALYSE CHIMIQUE :

L'AG ne possède pas d'enzymes marqueurs il est cependant riche en hydrolases et en peroxydases. Le contenu des saccules varie avec le type cellulaire, il est cependant toujours riche en polysaccharides. Les membranes golgiennes sont caractérisées par leur richesse en enzymes en particulier des glycosyl transférases (qui fixent des résidus glucidiques sur les protéines synthétisées et glycosylées dans le REG)(élongation de la chaine). Ces membranes portent également de nombreuses sulfo transférases(qui transforment les chaines protéiques en dérivés sulfatés) des enzymes capables de fixer des groupements phosphates ou des acides gras ainsi que des enzymes qui élaguent (détachent) des sucres.

ROLES PHYSIOLOGIQUES :

Dès 1960 Palade démontra à l'aide d'un marquage radioactif sur des cellules du pancréas exocrine que, les protéines synthétisées dans le REG traversent les citernes golgiennes avant de s'accumuler dans des vésicules de sécrétion.

L eblond démontra que ces protéines sont glycosylées dans l'AG. Les enzymes présents sur les saccules (citernes) peuvent ajouter (élongation), ou élaguer (détacher) des sucres. D'autres enzymes fixent des phosphates, des sulfates ou des acides gras.

EMBALLAGES DES PRODUITS DE SECRETION :

Palade et all ont démontré en 1964 le rôle de l'AG dans l'emballage des produits de sécrétion.

Expérience : des tranches de pancréas sont placées dans un milieu nutritif stérile (les cellules demeurent actives quelques heures et secrètent des hydrolases pancréatiques). Le milieu est enrichi de leucine radioactive pendant 3mn (pulse) puis placées dans un milieu froid donc sans traceur radioactif (chasse). Les échantillons sont prélevés et analysés par autoradiographie et par mesure de la radioactivité. Celle-ci est révélée dans le REG dès la fin de du pulse puis elle se concentre dans l'AG après 7mn de chasse, après 40mn elle est dans les grains de pro enzyme, elle est excrétée après 120 mn du début de l'expérience.

-Un deuxième lot de prélèvement est traité selon le même protocole pour analyse, les tranches de pancréas sont broyés, l'homogénat est passé en UCD afin de séparer ; grains de zymogène, fractions de microsomes rugueux (REG) et lisses ; l'AG (il ya peu de REL).

La majorité de la radioactivité mesurée à différents temps au compteur Geiger est retrouvée au niveau de ces fractions. A l'évidence les polypeptides sont synthétisés dans le REG cheminent dans

des vésicules de transition vers les saccules golgiens puis emballés dans des vésicules de sécrétion avant d'être excrétés au pôle apical .Au cours de ce transport ils sont donc isolés du hyaloplasme. Ce mode de cheminement est général aux cellules eucaryotes.

Glycosylation des protéines, triage et orientation des protéines.

Jaurès Prothman et all en 1981 ont mis au point une technique de séparation des saccules golgiens par UCD sur gradient de saccharose ; Ils ont ainsi Isolé les saccules de la face proximale (cis) de ceux de la face trans et des saccules intermédiaires. La garniture enzymatique de ces fractions n'est pas interchangeable. Chaque dictyosome apparait formé d'au moins 3 compartiments superposés caractérisés par des enzymes qui leur confèrent des fonctions distinctes.

1) Saccules de la face proximale (cis) : phospho transférases.

2) / / / / / / / /moyenne : manosidases qui élaguent le mannose et des N acétyle glucosamine transférases qui fixent le N acétyle glucosamine.

3) Saccules de la face distale (trans) plus légères : galactose transférases qui fixent le galactose et des acide sialique transférases qui fixent l'acide sialique.

Dans le REG les polypeptides sont glycosylés, ils reçoivent tous ; 2 N acétyle glucosamine, 9 mannoses et 3 glucoses. Avant de quitter le REG les 3 glucoses et 1 mannose sont élagués.

-Les protéines destinées aux lysosomes (hydrolases) reçoivent des groupements phosphates sur le mannose qui constitue un véritable marquage de la protéine. Ces hydrolases traversent les citernes golgiennes passent dans les vésicules golgiennes formant ainsi des lysosomes I^{aires}.

-Les protéines destinées à être excrétées sont libérées dans la lumière du REG elles circulent dans les citernes proximales du dictyosome sans changement. Dans les citernes moyennes elles perdent la plupart des résidus mannoses (il n'en restera que 3) et reçoivent 2N acétyle glucosamines et dans les citernes distales 2 galactoses et 2 acides sialiques seront attachés au mannose.

-Les protéines membranaires se replient dans la bicouche de phospholipides du REG. Dans l'AG elles perdent également plusieurs mannoses mais ne reçoivent pas d'acétyle glucosamine. Galactose et acide sialique termineront la chaine des polyholosides. Les glycoprotéines synthétisées dans le REG sont reconnues d'après leur séquence en acide aminés puis étiquetées dans l'AG grâce à un mécanisme d'élongation des chaines glucidiques dont la séquence détermine le devenir de la glycoprotéine.

Ces sucres formés dans le cytosol pénètrent dans les saccules golgiens grâce à des transporteurs. --- Les protéines en cours de glycosylation circulent toujours dans le sens cis à trans enfermées dans des vésicules.

Les glycoprotéines sulfatées le sont dans l'AG par des sulfotransférases. L'étude par traceur marqué S de mucocytes élaboratrices de mucopolysaccharides sulfatés le démontre clairement.

FORMATION DES CYTOMEMBRANES :

L'AG est le principal fournisseur de cytomembranes. Dans les cellules à activité sécrétoire l'agrandissement de la membrane plasmique résulte de l'addition des membranes des vésicules d'excrétion qui s'intègrent par fusion dans les phospholipides. L'asymétrie de la membrane est respectée car les groupements saccharidiques sont orientés vers la face luminale dans le REG les dictyosomes et les vésicules de d'exocytose. La garniture protéique change peu à peu depuis les citernes golgiennes, ainsi, le C_{B5}, les glycosyl transférases et les sulfotransférases et disparaissent.

-Dans les autres types cellulaires des vésicules golgiennes recouvertes d'un réseau de clathrine indépendamment de toute fonction d'excrétion viennent s'ouvrir sur la membrane plasmique assurant ainsi son élongation, les mouvements d'amaebiose semblent résulter de tels mécanismes.

-Le rôle de l'AG dans la glycosylation des lipides membranaires n'est pas encore tout à fait élucidé, ces glycolipides se retrouvent dans la membrane plasmique après passage dans l'AG.

Les membranes vésiculaires s'intègrent directement à la membrane de l'organite cible.

Synthèse protéique et glycosylation dans le REG

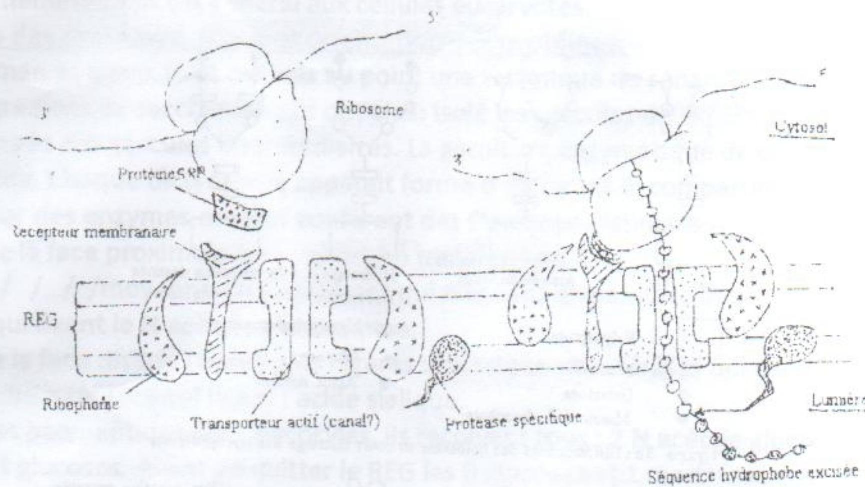


Figure 1: Synthèse des protéine = relations REG-Ribosome

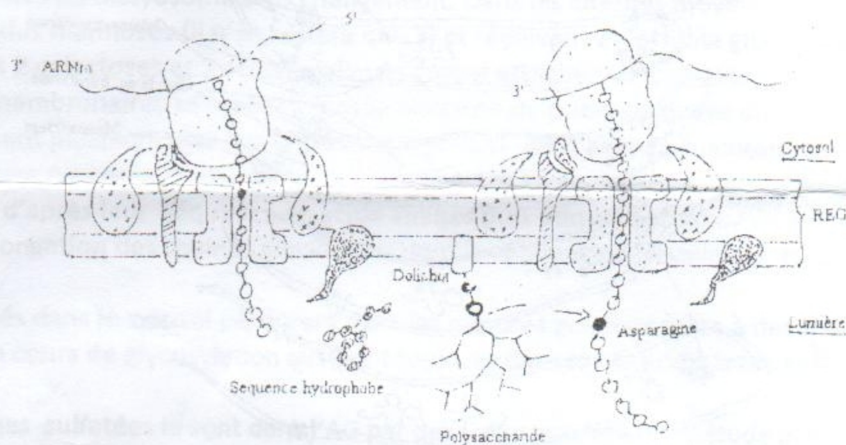


Figure 2 Glycosilation des protéines

Glycosylation et triage des protéines (AG)

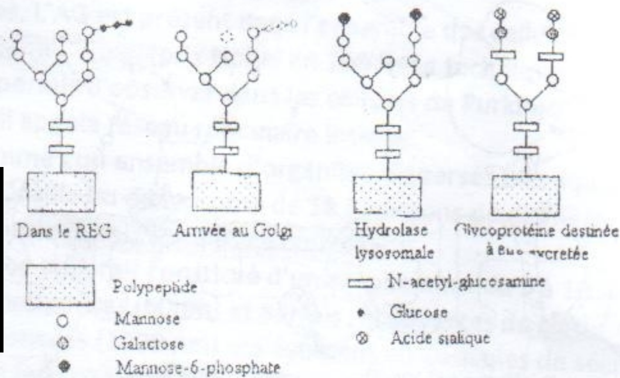


Figure 3a : Modifications des holosides au cours du triage des glycoprotéines

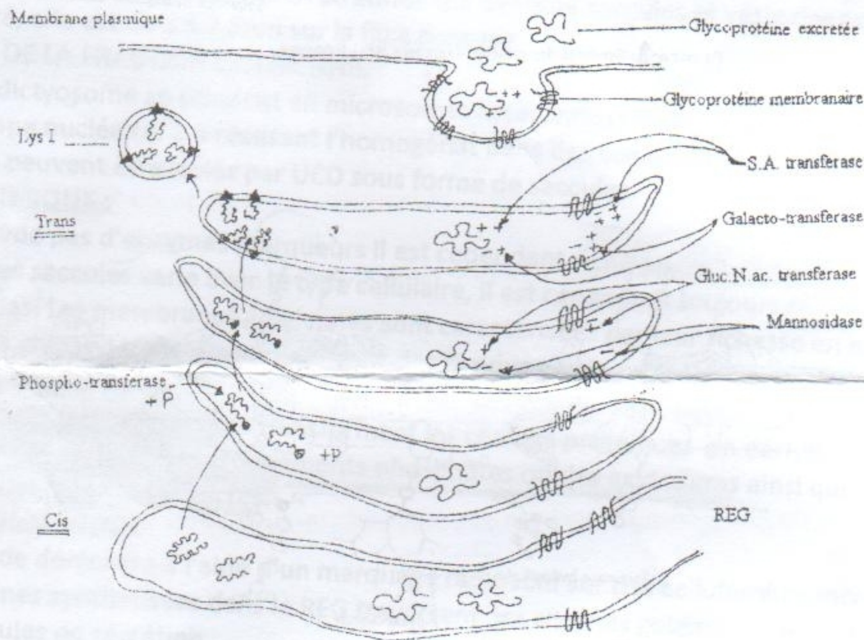


Figure 3b : Glycosilation et triage des protéines

2